

Título

Otimização da extração de RNA de bananeira e detecção do Cucumber mosaic virus por RT-PCR

Resumo

tt

Trabalhos

Título

Otimização da extração de RNA de bananeira e detecção do Cucumber mosaic virus por RT-PCR

Autor(es)

NEIDE MOURA SANTOS

Emanuel Felipe Medeiros Abreu

Paulo Ernesto Meissner Filho

Resumo

A bananeira está entre as culturas de maior importância econômica para os países tropicais e subtropicais. Pertence à família das Musáceas, é cultivada em todos os estados brasileiros principalmente em São Paulo, Bahia, Santa Catarina, Minas Gerais e Pará. O vírus do mosaico do pepino (Cucumber mosaic virus, CMV) do gênero Cucumovirus, família Bromoviridae está presente nas principais regiões produtoras de banana. O isolamento de RNA de qualidade de plantas ricas em carboidratos, compostos fenólicos e secundários requer cuidados especiais. Este trabalho visou selecionar um método de extração de RNA de qualidade de bananeira, bem como ajustar as condições para a realização de RT-PCR para CMV. Amostras de fumo infectado com o CMV foram usadas como controle positivo. Para a extração de RNA total das amostras foliares de fumo e de bananeira foram testados produtos comerciais a base de tiocianato de guanidina e fenol (Tri Reagente e Brazol) e um protocolo descrito por Wang et al. (Mol. Biol. Rep. 37:2099-2103, 2010). Como controle interno da reação utilizou-se o primer Musa 25 S rRNA (106 pb). Para as reações de transcrição reversa empregou-se 6 µg de RNA. Primers usados na PCR: CMV1 F (5' CAT CGA CCA TGG ACA AAT CTG AAT CAA C 3') e CMV2 R (5' CTC TCC ATG GCG TTT AGT GAC TTC AGC AG 3') e o primer CMV-Fboa (5' TAT GAT TAA GAA RCT TGT TTC GCG 3' e CMV-Rboa (5' GCC GTA AGC TGG ATG GAC AA 3'). A PCR foi realizada nas seguintes condições: 94 °C/ 3 min., 35 ciclos de 94 °C/45 seg., 58 °C/30 seg., 72 °C/2 min., e uma extensão final de 72 °C/10 min. Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo. As extrações de RNA total de fumo de melhor qualidade foram obtidas com o

protocolo proposto por Wang et al. (2010). Só foi possível obter RNA de qualidade de bananeira, quando se utilizou o protocolo de extração testado neste trabalho. Foi possível amplificar fragmentos do CMV na PCR para todos os primers testados, quando utilizou-se amostras obtidas de fumo infectado. Para as amostras de bananeira, a eficiência da reação foi confirmada pela amplificação do controle interno específico para o gênero Musa, pois não havia disponível nenhuma amostra de bananeira infectada com o CMV.

Palavras-Chaves

- 1 - Musa
- 2 - Transcrição reversa
- 3 - Reação em cadeia da polimerase
- 4 - CMV